

iAP20 Rec'd PCT/PTO 09 AUG 2006

明 細 書

たんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造法

技術分野

- [0001] 本発明は、生体内で緩徐に消失する多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子を基剤とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造法に関する。

背景技術

- [0002] たんぱく性薬物の長期間にわたる徐放性注射用製剤は、これまでポリ乳酸・グリコール酸(PLGA)を基剤にしてその多くは検討されてきた(例えば、特許文献1、2、非特許文献1、2、3参照)。また、ヒト成長ホルモン(hGH)を含有するPLGAを基剤とした徐放性マイクロカプセルが米国において実際の治療に使用されている(例えば、非特許文献4参照)。PLGAは、生体内で加水分解して徐々に消失する生体内消失性の基剤で注射剤の基剤としては好ましい性質を有している。一般的にはPLGAを使用する徐放性製剤を製造する際には、それを溶解する有機溶媒を使用する。一方、多くのたんぱく性薬物は、水溶性であり、PLGAを用いた徐放性微粒子製剤を製造するには、有機溶媒溶液と水溶液とを使用することになる。
- [0003] この2つの溶媒を同時に使用するとたんぱく性薬物の一部は、変性し、失活する。このような活性の低下は、有効性を損なうのみならず生体に対しても悪い影響をもたらす危険性がある。また、水溶性のたんぱく性薬物の徐放性微粒子製剤においては、投与初期(直後)に一過的な過剰の放出をすることは避けられない。また、ヒドロキシアパタイトを用いたヒト成長ホルモン(たんぱく性薬物)の徐放性微粒子製剤についての報告もある(例えば、非特許文献5、6参照)。しかし、いずれも2成分系であり、アパタイトの粒子径も40から80 μ mあるいは200 μ mと大きく、細い針での注射投与は困難である。さらに、in vivoにおける徐放効果は、不明である。また、アパタイト中に含有するヒト成長ホルモン量も1%以下と小さいものであった。
- [0004] 特許文献1: 特開平10-231252
特許文献2: 米国特許 5656297

非特許文献1: O.L. Johnson et al: Nature Medicine, 2: 795-799, (1996)

非特許文献2: M. Takenaga et al: J. Pharmacy Pharmacology, 54: 1189-1194, (2002)

非特許文献3: S. Takada et al: J. Controlled Release, 88: 229-242, (2003)

非特許文献4: NDA 21-075

非特許文献5: J. Guicheux et al: J. Biomedical Materials Research, 34: 165-170, (1997)

非特許文献6: H. Gautier et al: J. Biomedical Materials Research, 40: 606-613, (1998)

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0005] たんぱく性薬物の注射用徐放性製剤においては、投与後、薬物の放出が終了するころに生体内から消失する生体内消失性の機能を有する素材を選定しなければならない。また、その製造に関しては、水に混和しない有機溶媒と水溶液との同時の使用は避け、たんぱく性薬物の変性を回避しなければならない。また、微粒子製剤中の薬物含有量は、すくなくとも5%以上としないと製剤の投与量が大きくなりすぎて細い注射針での投与が困難なことが生じるという問題点、さらに、多くの場合反復投与となるので、細い針を通ることが好ましく、また、徐放期間は、すくなくとも3日以上、好ましくは1週間以上にわたる微粒子製剤でなければならないし、同時に副作用の原因となり得る初期過剰放出は、極力少なくしなければならない、という問題点があった。

[0006] そこで、本発明は、製造に際して、有機溶媒の使用を極力回避し、水非混和性の有機溶媒と水溶液との同時使用を避け、得られた製剤は、生体内消失性および徐放性機能をあわせもち、3日以上にわたり、ほぼ一定速度で含有するたんぱく性薬物を徐放し、その薬物含量も5%以上であり、分散性、通針性も良好であるたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らはこれらの課題を解決するために、多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子を利用することによって、生体内消失性および徐放性機能を併せ持つ製剤

が水と有機溶媒とを同時に使用することなしにえられることをみいだした。さらに、たんぱく性薬物に水溶性の2価金属化合物を併用することによってたんぱく性薬物の初期過剰放出が抑制されることをみいだした。そのうえ、多孔性アパタイトにタンパク性薬物を十分に浸潤させた後、生体内消失性高分子化合物を被覆または付着させることによってより長期間にわたる徐放性がえられること、同時に初期の過剰放出をより小さくできることをもみいだした。

[0008] ここに記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤を構成する多孔性アパタイトおよびその誘導体とは、ヒドロキシアパタイトでも、またはその構成成分であるカルシウムの一部を亜鉛に置換した化合物でもよい。このときの亜鉛の置換率は、1〜20%が好ましい。多孔性アパタイトおよびその誘導体の微粒子は、既知の方法で得ることができる。たとえば、「山口喬・柳田博明編、牧島亮男・青木秀希著：セラミックサイエンスシリーズ7バイオセラミックス、技報堂出版(株)、7-9ページ、1984」に記載されている方法などがあげられる。ヒドロキシアパタイトを構成するカルシウム(Ca)とリン(P)の比率によって生体内での消失速度が異なり、 $(Ca+Zn)/P$ の値が1.67よりも小さいと水に溶けやすく生体内での消失速度が速くなる。 $(Ca+Zn)/P$ の値は、1.67〜1.51の範囲が好ましい。また、アパタイトを製造するときの処理温度は、低い方が水に溶けやすく、消失速度も速くなる。処理温度は室温〜800℃が用いられるが、150〜600℃が好ましい。さらに、150〜400℃がより好ましい。800℃以上で焼成されると生体内で消失されなくなる。また、100℃以下で処理すると粒子同士が凝集しやすくなり、通常の注射投与が困難となる。その粒子径は、平均値で50 μm 以下が好ましく用いられる。しかし、あまり小さいとタンパク性薬物の封入率が低下することが懸念され、0.1〜50 μm が好ましく、0.5〜30 μm がより好ましく用いられ、0.5〜10 μm がさらに好ましく使用される。

[0009] この多孔性アパタイトを被覆する生体内消失性高分子化合物には、ポリ乳酸(PLA)またはポリ乳酸・グリコール酸(PLGA)、ポリエチレングリコール(PEG)にPLAおよび/またはPLGAが結合したブロックコポリマー、コラーゲン、ポリシアノアクリル酸、ポリアミノ酸誘導体などがあるが、PLAまたはPLGAを高濃度に用いると生体内消失性高分子を被覆したアパタイト同士が凝集する。また、このときに水に混和しない有機溶媒を

使用するのをこれを完全に除去しないと、最終工程で凍結乾燥をするときに水を加えるためにたんぱく性薬物の変性が生じる可能性がある。そこで、種々検討の結果、PEGにPLAまたはPLGAが結合したブロックコポリマーが好ましいと結論された。この結合様式はPEGの両末端の水酸基にPLAまたはPLGAがエステル結合した化合物でもよく、PEGの片末端にエステル結合した化合物でもよい。片末端エステルの場合、他の末端は、 OCH_3 、アルコキシ基などで保護されていることが好ましいがアミノ基、カルボキシル基などの官能基が結合されていてもよい。PEGとPLAまたはPLGAの比率は、PEGが重量比で20〜90%が好ましく、25〜65%がより好ましい。ブロックコポリマーの分子量は、全体で3,000〜20,000が好ましく、5,000〜12,000がより好ましい。生体内消失性高分子の使用量は、アパタイト誘導体の3〜100重量%の範囲で使用されるが好ましくは5〜30%の範囲で用いられる。

[0010] 水溶性2価金属化合物としては、塩化亜鉛、酢酸亜鉛、炭酸亜鉛、塩化カルシウム、水酸化カルシウム、塩化鉄、水酸化鉄、塩化コバルトなどが挙げられる。なかでも塩化亜鉛が好ましく用いられる。塩化亜鉛に加えて、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウムなどを併用してもよい。その使用量は、内封されるたんぱく性薬物によって異なるが、一般的には多孔性アパタイトの2〜100重量%の範囲が好ましく用いられる。さらに好ましい範囲は、2〜30%である。

[0011] たんぱく性薬物としては、その分子量が5,000以上の化合物に適用される。たとえば、ヒト成長ホルモン、肝細胞成長因子(HGF)、繊維芽細胞成長因子(FGF)、IGF-1、EGF、NK4、VEGF、NGF、BDNF、BMP、アディポネクチン、インターフェロン類($\text{INF-}\alpha$)、インターロイキン類(IL-2, IL-4, IL-5など)、EPO、G-CSF、インスリン、ANP、TNF- α 、抗体などがあげられる。その使用量は、たんぱく性薬物および徐放期間によって異なるが、多孔性アパタイトへの封入量は、多いほど好ましい。多孔性アパタイト内へ安定に封入される量は、アパタイトの5〜50%が一般的である。

[0012] 本発明のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤の製造方法は、一般的には次のような操作からなる。多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子をたんぱく性薬物水溶液中に分散し、攪拌して水溶液を該アパタイト中に十分に浸潤させる。その後、遠心分離などにより浸潤しきれない水溶液を取り除く、さらに必要であれば、水溶

性2価金属化合物水溶液を加え、攪拌し、水溶液を浸潤させる。その後、濾過、真空乾燥または凍結乾燥してたんぱく性薬物含有の粉末を得る。この粉末を、生体内消失性高分子の水溶液または懸濁液、または水混和性溶媒(たとえばアセトン、エタノールなど)を含む生体内消失性高分子水溶液中または懸濁液中に分散し、攪拌の後、必要に応じて安定化剤などを加えて凍結乾燥または真空乾燥することによって粉末として製造する。実際に投与するときには、この粉末を適当な分散媒中に分散させて皮下または筋肉内などに注射投与する。最終的に得られた徐放性微粒子製剤の粒子径は、通常の投与に用いられる注射針を通過すればよい。実際には、注射針の径は細いほど患者に対する恐怖心は小さい。注射針の太さをあらかず国際基準で25G以下の太さの針を通過することがより好ましい。これらを満足する徐放性微粒子製剤の粒子径は、0.5〜50 μm である。また、たんぱく性薬物の徐放期間は、薬物の活性などによって異なるが、一般的には1週間以上の徐放が好ましい。

発明の効果

- [0013] 本発明により得られた微粒子製剤は、たんぱく性薬物を少なくとも3日以上にわたり徐放し、初期の過剰放出は、非常に小さく、たんぱく性薬物含量も最大30%にも達する微粒子製剤が得られることをみいだした。また、得られた製剤は25Gの注射針を通過した。また、最終的には凍結乾燥することで粉末化した微粒子製剤に調製でき、内封されたたんぱく性薬物も非常に安定している。

実施例

- [0014] 以下に実施例によってその徐放性および生体内消失性を示すが、この例に限定されるものではない。

[0015] (実施例1)

焼成温度の異なる2種類の亜鉛置換ヒドロキシアパタイト(平均粒子径8 μm)を用いて生体内消失の確認試験を行った。SD系雄性ラット(6週齢)を1群5匹用いた。180℃処理品と400℃処理品をそれぞれ懸濁液(0.1%Tween80, 0.5%CMC-Na, 5%マンニトール水溶液)に分散させ、1匹あたり0.2mlの容量でヒドロキシアパタイト5mgずつを背部中央皮下の左右に投与した。投与後(3時間, 1, 5, 10, 15, 20日)経時的に投与部位の残存物を摘出し、その湿重量とカルシウム量を測定した(表-1, 2)。投

与後1から5日まで膨潤等により湿重量は2倍近く増加したが、カルシウム量若干の増加にとどまった。その後急速に湿重量、カルシウム量ともに消失が進み180℃処理品では約15日、400℃処理品でも20日後にはほぼ消失した。

[0016] 表-1 抽出ヒドロキシアパタイト湿重量 (mg)

	3時間	1日	5日	10日	15日	20日
180℃処理品 (n=5)	14.2	27.1	28.0	17.0	2.3	0.0
400℃処理品 (n=5)	14.0	23.9	29.1	23.2	10.8	0.0

[0017] 表-2 抽出ヒドロキシアパタイト残存カルシウム量 (mg)

	3時間	1日	5日	10日	15日	20日
180℃処理品 (n=5)	1.27	1.53	1.45	0.26	0.01	0.00
400℃処理品 (n=5)	1.33	1.62	1.91	0.48	0.20	0.00

[0018] (実施例2)

400℃で処理したヒドロキシアパタイト(HAp)中のカルシウムの5%を亜鉛に置換した誘導体(HAp-Zn-0.5; カルシウム9.5molに対して亜鉛が0.5mol) 100mgにPD-10カラム(amersham pharmacia)を用いて脱塩処理したhGH溶液(50mg/mL)を700 μ L添加した後、水を添加し最終液量を5mLとした。3分攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水10mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.0mL(塩化亜鉛300 μ mol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。PLA-PEG-PLA-Y004 (PEG比率32%、分子量8,200)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセ

トン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 μ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られた製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

- [0019] 得られたhGH微粒子製剤サンプルのin vitroにおける放出性を比較した。得られたhGH微粒子製剤サンプルを2.5mg精秤し、これにPBS(生理的食塩リン酸緩衝液)を0.250mL添加し、37°Cで攪拌した。3000rpm 3min遠心処理によって経時的に上清を回収し、ゲル濾過HPLC解析(TOSO G2000SW-xl)により上清中に放出されたhGH量を定量した。この結果を表3に示す。コントロールとして作製したポリマー溶液処理を行わなかった製剤に比べて、ポリマー溶液処理を行った製剤の方が、PBS中へのhGHの放出が抑制された。

[0020] 表3 hGH微粒子製剤のin vitroにおける放出性に及ぼす
ポリマー溶液処理の影響

ポリマー溶液処理	累積放出hGH量(μ g)				
	2hr	4hr	24hr	4day	7day
無し (n=2)	0.8	2.3	6.3	7.8	9.6
有り (n=2)	1.5	2.6	2.6	2.6	2.9

[0021] (実施例3)

400°Cで処理したHAp-Zn-0.5 100mgにPD-10カラム(amersham pharmacia)を用いて脱塩処理したhGH溶液(50mg/mL)を700 μ L添加した後、タッチミキサーで1分間攪拌した。次に、水を最終液量が5mLとなるようにそれぞれ添加しさらに1分間タッチミキサーで攪拌した。3分間静置させた後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に水5mLを添加し、再度1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.7mL(塩化亜鉛400 μ mol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。

PLA-PEG-PLA-Y001 (PEG比率65.4%、分子量14,600)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・

水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 μ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られたhGH微粒子製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

- [0022] 作製したhGH微粒子製剤を0.5%CMC-Na, 5%mannitol, 0.1% Tween 80で懸濁し、雄性SD系ラットの背部皮下に10IU/kg (1IU: 0.35mg)で投与した。

投与後、1,2,4,8時間経過時、以後1日毎に尾静脈より採血を行い、hGHの血中濃度を全自動EIA装置AIA-6000 (東ソー株式会社)及びEテスト「TOSOH」 II (HGH)を用いて測定した。この結果を表4に示す。ポリマー溶液処理を行った製剤では、ポリマー溶液処理を行わない製剤よりも、より高い血中濃度を長期間持続した。

- [0023] 表4 hGH 微粒子製剤の in vivo における徐放効果

ポリマー溶液処理	hGH含量(%)	hGH血中濃度(ng/mL)							
		4hr	8hr	1day	2day	3day	4day	5day	6day
無し (n=2)	16.2	26.4	49.1	11.8	2.8	1.3	0.78	0.43	0.32
有り (n=2)	11.2	42.6	65.4	21.6	9.7	4.4	2.2	1.4	0.49

- [0024] (実施例4)

400°Cで処理したHAp-Zn-0.5 100mgにPD-10カラム(amersham pharmacia)を用いて脱塩処理したhGH溶液(50mg/mL)を700 μ L添加した後、水を添加し最終液量を5mLとした。3分攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水10mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.0mL(塩化亜鉛300 μ mol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。

PLA-PEG-PLA-Y004 (PEG比率32%、分子量8,200)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 μ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。得られたhGH微粒子製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

- [0025] 作製したhGH微粒子製剤を0.5%CMC-Na, 5%mannitol, 0.1% Tween 80で懸濁し、タ

クロリムス(藤沢薬品工業, 大阪)により免疫抑制を施した雄性SD系ラットの背部皮下に30IU/kg (1IU: 0.35mg)で投与した。なお、タクロリムスの投与は、あらかじめ製剤投与3日前に0.4mg/ラット、製剤投与開始後は3日おきに0.2mg/ラットの投与量で背部皮下に行った。

製剤投与後、1,2,4,8時間経過時、以後1又は2日毎に尾静脈より採血を行い、hGHの血中濃度を全自動EIA装置AIA-6000(東ソー株式会社)及びEテスト「TOSOH」II(HGH)を用いて測定した。この結果を表5に示す。ポリマー溶液処理を行ったhGH微粒子製剤では、約2週間にわたる徐放が認められた。

[0026] 表5 hGH微粒子製剤(hGH含量14.3%)のin vivoにおける徐放効果

投与後の経過時間	4hr	8hr	12hr	16hr	1day	2day	3day	4day	5day
hGH血中濃度(ng/mL)	4.6	31.6	99.9	101.3	95.7	29.9	11.4	8.5	5.8

6day	7day	8day	9day	10day	11day	12day	14day
4.2	3.4	2.6	2.0	1.8	1.6	1.9	1.3

[0027] (実施例5)

400℃で焼成したHApのカルシウムの一部を亜鉛に置換した誘導体(HAp-Zn-0.5; カルシウム9.5molに対して亜鉛が0.5mol)150mgにインターフェロン α (IFN- α)溶液(2.86mg/mL)を525 μ L添加した後、水を添加し最終液量を2mLとした。5分攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水15mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.0mL(塩化亜鉛300 μ mol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。PLA-PEG-PLA(PEG比率32%、分子量8,200)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を750 μ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られたHAp-IFN- α 製剤中のIFN- α 含量は、Human Interferon Alpha(Hu IFN- α)

ELISA Kit (PBL Biomedical Laboratories)により定量した。

- [0028] 得られたHAp-IFN- α サンプルのin vitroにおける放出性を比較した。得られたHAp-IFN- α サンプルを2.5mg精秤し、これに1/10希釈したPBS(生理的食塩リン酸緩衝液)を0.25mL添加し、37°Cで攪拌した。3000rpm 3min遠心処理によって経時的に上清を回収し、Human Interferon Alpha (Hu IFN- α) ELISA Kit (PBL Biomedical Laboratories)により上清中に放出されたIFN- α 量を定量した。この結果を表6に示す。コントロールとして作製したポリマー溶液処理を行わなかった製剤に比べて、ポリマー溶液処理を行った製剤の方が、1/10希釈したPBS中へのIFN- α の放出が十分に抑制された。

- [0029] 表6 HAp-IFN- α 製剤の in vitro における放出性に対するポリマー溶液処理の影響

	累積放出インターフェロン α 量(pg)						
	0	1hr	2hr	4hr	24hr	4day	7day
ポリマー溶液処理無し	455	989	2601	3398	4017	4727	6338
ポリマー溶液処理有り	95	207	328	410	550	641	752

- [0030] (実施例6)

400°Cで処理したHAp-Zn-0.5 100mgに、0.01N HClで10mg/mLに溶解したヒトインスリン組換体(和光純薬, 大阪)溶液を3.5mL添加し、さらに0.01N HClを加え最終液量を5mLとした。3分攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水10mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿を凍結乾燥した。PLA-PEG-PLA-Y004 (PEG比率32%、分子量8,200)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 μ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られた製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

- [0031] 得られたインスリン微粒子製剤サンプルのin vitroにおける放出性を比較した。得られたインスリン微粒子製剤サンプルを2.5mg精秤し、これにPBS(生理的食塩リン酸緩衝液)を0.25mL添加し、37°Cで攪拌した。3000rpm 3min遠心処理によって経時的に上清を回収し、micro BCA protein assay kit (Pierce)により上清中に放出されたインス

リン量を定量し、サンプル中に含まれる総インスリン量に対する割合を算出した。この結果を表7に示す。コントロールとして作製したポリマー溶液処理を行わなかった製剤に比べて、ポリマー溶液処理を行った製剤の方が、PBS中へのインスリンの放出が抑制された。

[0032]

表7 インスリン微粒子製剤の in vitro における放出性に及ぼすポリマー溶液処理の影響

ポリマー溶液処理	累積放出インスリン量 (% of total insulin)				
	1hr	2hr	4hr	24hr	4day
無し(n=2)	29.3	47.4	58.8	61.6	61.6
有り(n=2)	21.8	39.8	49.0	49.0	49.0

請求の範囲

- [1] たんぱく性薬物を含有する多孔性アパタイトまたはその誘導体を生体内消失性高分子で被覆または付着させたことを特徴とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [2] 前記生体内消失性高分子がポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーであることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [3] 前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーがポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸-ポリエチレングリコール-ポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーであることを特徴とする請求項2記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [4] 前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーの重量平均分子量が3,000から20,000であることを特徴とする請求項2記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [5] 前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーのうち、ポリエチレングリコールの重量割合が20から90%であることを特徴とする請求項2または3記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [6] 前記多孔性アパタイトまたはその誘導体中にたんぱく性薬物および2価金属塩を含有することを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [7] 前記多孔性アパタイトまたはその誘導体中のたんぱく性薬物の含有量が5から30%であることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [8] 前記多孔性アパタイトまたはその誘導体の平均粒子径が0.5-30 μ mであることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。
- [9] 前記多孔性アパタイトまたはその誘導体が100-600°Cで処理されたことを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の徐放性微粒子製剤。
- [10] 前記多孔性アパタイト中のカルシウムの一部が亜鉛に置換されたアパタイト誘導体であることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

- [11] 多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子をたんぱく性薬物水溶液中に分散し、攪拌して得られた粉末を、生体内消失性高分子水溶液中または懸濁液中に分散し、攪拌の後、凍結乾燥または真空乾燥することによって粉末とすることを特徴とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤の製造方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/001095

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl.⁷ A61K38/27, A61K38/28, A61K38/21, A61K47/02, A61K47/34, A61K9/08, A61K9/52

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁷ A61K38/00-39/44, A61K9/00-9/72, A61K47/00-47/48

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2005 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAP (STN), WPIDS (STN), JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	JP 2004-75622 A (Kabushiki Kaisha Mukku), 01 March, 2004 (01.03.04), Full text; Claims; examples 1 to 8 & WO 04/270 A1 & EP 1514538 A1	1-11
P, Y	JP 2004-307398 A (Independent Administrative Institution National Institute for Materials Science), 04 November, 2004 (04.11.04), Full text; Claims; Par. Nos. [0016] to [0017]; example 8 & WO 04/89417 A1	1-11
E, Y	WO 05/25542 A1 (LTT BIO-PHARM. LTD.), 24 March, 2005 (24.03.05), Full text; Claims; examples (Family: none)	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- A- document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- E- earlier application or patent but published on or after the international filing date
- L- document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- O- document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- P- document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- T- later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- X- document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- Y- document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- &- document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
06 May, 2005 (06.05.05)

Date of mailing of the international search report
24 May, 2005 (24.05.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/001095

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 3-68511 A (Sand AG.), 25 March, 1991 (25.03.91), Full text; Claims; example 6 & DE 4021517 A1 & GB 2234896 A & AU 9058746 B & FR 2649319 A1 & CA 2020477 A1 & GB 2265311 A & AU 9341985 B & AU 9341986 B & AU 9590737 B & JP 7-285853 A & JP 7-309897 A & JP 8-198771 A & CA 2316052 A1 & JP 2001-233897 A & DE 4042746 A1	1-11
Y	JP 6-293636 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 21 October, 1994 (21.10.94), Full text; Claims; Par. Nos. [0012] to [0016]; experimental examples; examples & EP 580428 A1 & AU 9341987 B & CA 2101183 A1 & US 5723269 A	1-11
Y	JP 10-511957 A (THE BOARD OF REGENTS OF MICHIGAN), 17 November, 1998 (17.11.98), Full text; Claims; examples & WO 96/20698 A2 & AU 9647556 B & EP 805678 A1 & AU 2000/18451 A1 & AU 2003/200882 A1	1-11
Y	JP 10-231252 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 02 September, 1998 (02.09.98), Full text; Claims; experimental examples; examples & WO 98/27980 A2 & AU 9878712 B & EP 946169 A2 & US 6197350 B1 & US 6399103 B1	6
Y	US 5656297 A (ALKERMES CONTROLLED THERAPEUTICS INC.), 12 August, 1997 (12.08.97), Full text; example VII & WO 95/29664 A1 & AU 9524674 B & EP 758227 A1 & US 5656297 A & AU 9871878 B & US 5912015 A & US 6368630 B1 & US 2002/168410 A1 & US 2004/241230 A1	6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/001095

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, Y	JP 2005-8545 A (Japan Science and Technology Agency), 13 January, 2005 (13.01.05), Full text; Claims; examples & WO 04/1128287 A1	1-11
P, Y	WO 04/112751 A1 (LTT BIO-PHARM. CO., LTD.), 29 December, 2004 (29.12.04), Full text; Claims; examples (Family: none)	1-11
X	US 5648097 A (BIOTEK INC.), 15 July, 1997 (15.07.97), Full text; Abstract; Claims 1, 5, 7, 9; column 1, lines 6 to 21; column 2, lines 25 to 27; column 4, lines 50 to 64; examples (Family: none)	1-11
X	JP 2002-348234 A (Proteck Co., Ltd.), 04 December, 2002 (04.12.02), Full text; Claims 1, 2, 4, 6, 9 to 11; Par. Nos. [0014], [0018] to [0019], [0022]; example 5 & WO 02/96396 A1 & EP 1398025 A1 & US 2004/185113 A1	1-11
Y	JP 5-255095 A (Kabushiki Kaisha Advance), 05 October, 1993 (05.10.93), Full text; Claim 2; Par. No. [0005]; example 4 (Family: none)	1-11
Y	GUICHEUX, J. ET. AL., 'APATTE AS CARRIER FOR GROWTH HORMONE: IN VITRO CHARACTERIZATION OF LOADING AND RELRASE.', J. BIOMED. MATER. RES., (1997), Vol. 34, No. 2, pages 165 to 170; full text	1-11
Y	GAUTIER, H. ET. AL., 'IN VITRO INFLUENCE OF APATITE-GRANULE-SPECIFIC AREA ON HUMAN GROWTH HORMONE LOADING AND RELEASE.', J. BIOMED. MATER. RES., (1998), VOL. 40, NO. 4, pages 606 to 613; full text	1-11
Y	WO 03/30943 A1 (THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA), 17 April, 2003 (17.04.03), Full text; abstract; Claims; Par. Nos. [0085], [0089]; examples & US 2003/134811 A1	1-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷

A61K38/27, A61K38/28, A61K38/21, A61K47/02, A61K47/34, A61K9/08, A61K9/52

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷

A61K38/00-39/44, A61K9/00-9/72, A61K47/00-47/48

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2005年
日本国実用新案登録公報	1996-2005年
日本国登録実用新案公報	1994-2005年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAP (STN), WPIDS (STN), JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	JP 2004-75622 A (株式会社ムク) 2004.03.01 文献全体、特許請求の範囲、実施例 1-8 & WO 04/270 A1 & EP 1514538 A1	1-11
P, Y	JP 2004-307398 A (独立行政法人物質・材料研究機構) 2004.11.04 文献全体、特許請求の範囲、【0016】-【0017】、実施例 8 & WO 04/89417 A1	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に関する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

06.05.2005

国際調査報告の発送日

24.5.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大久保 元浩

4C

8828

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
E, Y	WO 05/25542 A1 (LTT BIO-PHARM CO LTD) 2005.03.24 文献全体、特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-11
P, Y	JP 2005-8545 A (独立行政法人 科学技術振興機構) 2005.01.13 文献全体、特許請求の範囲、実施例 & WO 04/1128287 A1	1-11
P, Y	WO 04/112751 A1 (LTT BIO-PHARM CO LTD) 2004.12.29 文献全体、特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)	1-11
X	US 5648097 A (BIOTEK INC) 1997.07.15 文献全体、ABSTRACT、CLAIM 1,5,7,9、第1欄第6-21行、第2欄第25-27行、第4欄第50-64行、EXAMPLE X (ファミリーなし)	1-11
X	JP 2002-348234 A (株式会社フ・ロテック) 2002.12.04 文献全体、請求項 1,2,4,6,9-11、【0014】、【0018】-【0019】、【0022】、実施例5 & WO 02/96396 A1 & EP 1398025 A1 & US 2004/185113 A1	1-11
Y	JP 5-255095 A (株式会社フ・パンス) 1993.10.05 文献全体、請求項2、【0005】、実施例4 (ファミリーなし)	1-11
Y	GUICHEUX, J. ET AL. 'APATITE AS CARRIER FOR GROWTH HORMONE: IN VITRO CHARACTERIZATION OF LOADING AND RELEASE.' J. BIOMED. MATER. RES., (1997) VOL.34 NO.2 P.165-170 文献全体	1-11
Y	GAUTIER, H. ET AL. 'IN VITRO INFLUENCE OF APATITE-GRANULE-SPECIFIC AREA ON HUMAN GROWTH HORMONE LOADING AND RELEASE.' J. BIOMED. MATER. RES., (1998) VOL.40 NO.4 P.606-613 文献全体	1-11
Y	WO 03/30943 A1 (THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA) 2003.04.17 文献全体、ABSTRACT、CLAIMS、【00085】、【00089】、EXAMPLES & US 2003/134811 A1	1-11

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 3-68511 A (サント・アグエンゲ・セルヤブ) 1991.03.25 文献全体、特許請求の範囲、実施例 6 & DE 4021517 A1 & GB 2234896 A & AU 9058746 B & FR 2649319 A1 & CA 2020477 A1 & GB 2265311 A & AU 9341985 B & AU 9341986 B & AU 9590737 B & JP 7-285853 A & JP 7-309897 A & JP 8-198771 A & CA 2316052 A1 & JP 2001-233897 A & DE 4042746 A1	1-11
Y	JP 6-293636 A (武田薬品工業株式会社) 1994.10.21 文献全体、特許請求の範囲、【0012】-【0016】、実験例・実施例 & EP 580428 A1 & AU 9341987 B & CA 2101183 A1 & US 5723269 A	1-11
Y	JP 10-511957 A (サ・ホート・オブ・リーシェンツ・オブ・サ・ユニヴァーシティ・オブ・ミシガン) 1998.11.17 文献全体、特許請求の範囲、実施例 & WO 96/20698 A2 & AU 9647556 B & EP 805678 A1 & AU 2000/18451 A1 & AU 2003/200882 A1	1-11
Y	JP 10-231252 A (武田薬品工業株式会社) 1998.09.02 文献全体、特許請求の範囲、実施例・実験例 & WO 98/27980 A2 & AU 9878712 B & EP 946169 A2 & US 6197350 B1 & US 6399103 B1	6
Y	US 5656297 A (ALKERMES CONTROLLED THERAPEUTICS INC) 1997.08.12 文献全体、EXAMPLE VII & WO 95/29664 A1 & AU 9524674 B & EP 758227 A1 & US 5656297 A & AU 9871878 B & US 5912015 A & US 6368630 B1 & US 2002/168410 A1 & US 2004/241230 A1	6